

## 明細書

## 質量分析のためのイオン化方法および装置

## 技術分野

この発明は、質量分析のためのイオン化方法および装置に関し、さらに具体的には、レーザスプレー法およびM A L D I (Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization: マトリクス支援レーザ脱離イオン化)法に関する。

## 背景技術

試料のイオン化法の代表的なものには、エレクトロスプレー法、レーザスプレー法、M A L D I 法等がある。レーザスプレー法は、たとえば I. Kudaka, T. Kojima, S. Saito and K. Hiraoka "A comparative study of laser spray and electrospray" *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 14, 1558-1562(2000)に記載されている。また、M A L D I 法は、K. Dreisewerd "The Desorption Process in MALDI" *Chem. Rev.* 2003, 103, 395-425に記載されている。

これらのイオン化方法のうちで、レーザスプレー法は、液体試料を導入したキャピラリーの先端にレーザ光を照射して、試料をイオン化するものであり、エレクトロスプレー法に比べて桁違いに高い検出感度を有するという特長をもつ。また、既存のエレクトロスプレー法は水溶液試料への適用が難しいが、レーザスプレー法は水溶液試料に適用できるという利点をもつ。

他方、M A L D I 法は、マトリクスと混ぜて保持された試料に、レーザ光を照射して試料をイオン化するものである。一般的に紫外窒素レー

ザ光（波長 337nm）が用いられるが、レーザ光のエネルギー密度が高く、生体試料の場合にはそれが分解するという問題がある。DNA分子、タンパク質などの質量分析においては、数万を超える分子量をもつ弱い結合の試料を分解させることなくイオン化することが望まれる。

#### 発明の開示

この発明は、上述した特長、利点をもつレーザスプレー法をさらに高感度化することを目的とする。

この発明はまた、大気圧イオン化法と組み合わされた高感度のレーザスプレー法によるイオン化方法を提供するものである。

この発明はさらに、生体試料のイオン化に適用できるMALDI法を提供することを目的とする。

レーザスプレー法に関するこの発明は、液体試料を導入したキャピラリー（細孔があけられた細管）の先端にレーザ光を照射して試料をイオン化するレーザスプレー法において、少なくともキャピラリーの先端部を、使用するレーザ光を吸収しにくい物質で形成するものである。

キャピラリー先端部にある液体試料は、レーザ光照射によって気化し、正または負のイオンが生成される。キャピラリーの少なくとも先端部はレーザ光を吸収しにくい（吸収しないことを含む）物質で形成されているので、レーザ光のエネルギーの殆どすべてがキャピラリー先端部の液体試料の温度上昇、そして気化のために投入される。レーザ光照射によって液滴が生成されている可能性もあるが、この液滴はキャピラリー先端の細孔内に閉じ込められるので、最終的に液体試料がほぼ完全に気化する。このようにして、液体試料から効率的に正または負イオンが生成される。

レーザ光照射にはいくつかの態様がある。その1は、レーザ光の光軸

とキャピラリーの軸方向（長手方向）とがほぼ一直線状になるようにレーザ装置を配置し、キャピラリーの先端にレーザ光を、キャピラリーのほぼ軸方向に向って照射することである。その2は、キャピラリーの先端にレーザ光を、キャピラリーの軸方向にほぼ垂直な方向から照射することである。キャピラリーの先端部は、使用するレーザ光を吸収しにくい物質で形成されているから、照射されたレーザ光はキャピラリーの先端部を透過してその内部の液体試料に照射されることになる。レーザ光を、キャピラリーの軸方向に対して斜めの方向からキャピラリー先端に照射してもよい。

好ましい実施態様では、レーザ光として赤外レーザ光（たとえば、波長 $10.6\mu\text{m}$ ,  $2.94\mu\text{m}$ ）が用いられる。連続発振で高パワーの赤外光レーザ装置が入手可能である。水を含む液体は赤外光を吸収するので、レーザ光のエネルギーが効率良く液体試料の気化に使用される。

赤外レーザ光を吸収しない、ないしは吸収しにくい材料としては、ダイヤモンド、シリコン、ゲルマニウム等がある。これらの材料によりキャピラリーを形成することもできるが、好ましくは、絶縁性キャピラリーの先端に、これらの材料により形成された細孔を有するチップを、チップの細孔がキャピラリーの細孔と連通するように取付ける。たとえば、絶縁性キャピラリーの先端に、キャピラリーの細孔に連通する細孔があけられたダイヤモンドチップを取付ける。

さらに好ましい態様においては、少なくともキャピラリーの先端部を、質量分析装置のイオン導入口付近において、真空中に配置する。これによって、キャピラリー先端部近傍で生成された正、または負イオンが真空の質量分析装置の内部に効率よくサンプリングされる。もちろん、キャピラリーの先端部を、質量分析装置イオン導入口付近において、大気圧中に配置してもよい。

気化した試料のイオン化を一層促進するとともに、イオン化した試料の中性化を防止するために、キャピラリー先端部に強い電場を形成しておく。たとえば、キャピラリーを導電体で形成し、キャピラリーに正または負の高電圧を印加することにより、キャピラリー先端近傍に電場を形成する。

他の方法では、キャピラリーを絶縁体で形成し、キャピラリー内に導電線（金属線、好ましくは白金線）を配置し、この導電線に正または負の高電圧を印加する。これによってキャピラリーの細孔内を給送される液体試料中の正または負イオンが濃縮される。導電線はキャピラリー内部（細孔内）に挿通され、その先端部の近くまで延びていることが好ましい。

パルス状レーザ光を照射してもよいし、液体試料をキャピラリー内に連続的に流し、連続発振のレーザ光を照射するようにしてもよい。

大気圧イオン化法と組み合わされた高感度のレーザスプレー法によるこの発明によるイオン化方法は、液体試料を導入したキャピラリーの先端にレーザ光を照射して試料をイオン化するレーザスプレー法において、少なくともキャピラリーの先端部を、使用するレーザ光を吸収しにくい物質で形成し、少なくともキャピラリーの先端部をコロナ放電ガス（大気を含む）中に配置し、キャピラリーの先端部の近傍にコロナ放電電極を設け、このコロナ放電電極に正または負の高電圧を印加してコロナ放電を生起させるものである。

上述のようにレーザ光照射によってキャピラリー先端部にある液体試料が気化され、正または負のイオンが生成される。このとき、中性のままの分子、または正負イオンが再結合して中性化した中性分子も存在する。これらの中性分子がコロナ放電によりプロトン化または脱プロトン化して正または負イオンが生成される。このようにして、キャピラリー

先端部付近で濃縮された状態でイオン化されるので、中性分子のイオン化効率を高めることができる。

上述したキャピラリー内に挿入された導電線を利用してコロナ放電電極を設けることができる。すなわち、キャピラリーを絶縁体で形成し、キャピラリー内に導電線を配置し、この導電線の先端をキャピラリーの先端部から外方にわずかに突出させてコロナ放電電極とする。

少なくともキャピラリーの先端部を大気中に配置することにより、大気圧イオン化法との組み合わせが達成される。この場合に、より好ましくは、キャピラリーの先端部付近にアシストガスを供給する。これにより、コロナ放電を容易に発生させ、また安定に放電プラズマを持続させることができる。

キャピラリーを利用してアシストガスを供給する構成とすることもできる。すなわち、キャピラリーの外側にキャピラリーの外周面との間に隙間をあけて外筒を設け、キャピラリーの外周面と外筒との間を通してアシストガスをキャピラリーの先端部付近に導入する。

レーザの駆動方法、レーザ光の照射方法は上述したすべての態様を採用することができる。すなわち、パルス状レーザ光を照射する、または液体試料をキャピラリー内に連続的に流し、連続発振のレーザ光を照射する。キャピラリーの先端にレーザ光をキャピラリーのほぼ軸方向に向って照射する、またはキャピラリーの先端にレーザ光をキャピラリーの軸方向にほぼ垂直な方向から、もしくは斜めの方向から照射する。

この発明によるイオン化装置は、液体試料を導入するキャピラリーの先端にレーザ光を照射して試料をイオン化するレーザスプレー装置において、少なくともキャピラリーの先端部が、使用するレーザ光を吸収しにくい物質で形成されていることを特徴とするものである。

より具体的なこの発明によるイオン化装置は、質量分析装置のイオン

導入口の外側に、ハウジングにより、イオン導入口を通して質量分析装置と連通するイオン化空間を形成し、このイオン化空間内に、液体試料を導入するキャピラリーの少なくとも先端部を配置し、キャピラリーの先端にレーザ光を照射するレーザ装置をイオン化空間の外部に配置し、少なくともキャピラリーの先端部を、使用するレーザ光を吸収しにくい物質で形成するものである。

イオン化空間内を真空にしてもよいし、コロナ放電ガスを入れてもよい（大気としてもよい）。

一実施態様では、キャピラリーが絶縁性材料で形成され、キャピラリーの細孔に連通する細孔があけられたダイヤモンドチップがキャピラリーの先端に取付けられ、キャピラリーの細孔内に、高電圧が印加される導電線が配置される。

この場合に、導電線の先端がキャピラリー内にあり、キャピラリー先端部の近くまで伸びている。

コロナ放電により中性分子をイオン化する方法を実現する装置では、キャピラリーの先端部付近にコロナ放電電極が設けられる。または、キャピラリーに挿通された導電線の先端部をキャピラリー先端のダイヤモンドチップから外方にわずかに突出させる。

レーザ装置の駆動方法、レーザ装置の配置（レーザ光の照射方向）は上述したすべての態様が採用可能である。

M A L D I 法に関するこの発明は、マトリクスと混ぜて保持された試料に、レーザ光を照射して試料をイオン化するM A L D I 法において、水を含む低分子量の無機マトリクスを用い、周囲の少なくとも一部に突起が形成された基板の窪み内に、無機マトリクスと混ぜた試料を保持し、赤外レーザ光を試料に照射するものである。パルス状レーザ光の照射が好ましい。

この発明によると、赤外レーザ光を使用しており、水を含む低分子量の無機マトリクスは赤外光を吸収するので、試料を急速に瞬間に加熱気化（蒸発）させることができる。水を含む生体試料も赤外光をよく吸収するので、この発明による方法は生体試料のイオン化に好適である。マトリクスとして無機材料を用いているから、これらが加熱分解したときにも、質量分析の雑音（ノイズ）になりにくく、検出感度を高めることができる。さらに、無機マトリクスと混ぜた試料は基板の窪み内に保持されるから、いわばこの窪み内に閉じ込められ、赤外レーザ光の殆どすべてのエネルギーが試料および無機マトリクスの加熱気化のために消費される。

気化された試料のイオン化の促進と中性化の防止のために、基板の窪み内に保持された試料の周囲に電場を形成する、たとえば、導電性基板に高電圧を印加して電場を形成する。窪みの周囲には突起が形成されているので、電界強度の高い電場が形成される。

基板としてポーラスシリコンを用いることができる。ポーラスシリコンはその表面に無数のナノサイズの穴があいているので、この穴を上記の窪みとして利用することができ、基板の微細加工が不要となる。また穴の周囲には鋭い突起があるので、電界強度が高まる。

水を含む無機マトリクスによる生体試料の基板への保持のために、基板を冷却することが好ましい。これにより、試料の乾燥を防ぐことができる。

この発明によるイオン化装置は、質量分析装置のイオン導入口の外側に、ハウジングにより、イオン導入口を通して質量分析装置と連通する真空に保たれるイオン化空間を形成し、周囲の少なくとも一部に突起が形成された窪みを持つ基板を上記イオン化空間内に配置し、イオン化空間の外部に、上記基板の窪みに保持された無機マトリクスと混ぜられた

試料に赤外レーザ光を照射するレーザ装置を配置するものである。

一実施態様では、上記基板を冷却する冷却装置が設けられる。

#### 図面の簡単な説明

第1図は、第1実施例によるイオン化装置を示す構成図である。

第2図は、キャピラリーおよびその先端のダイヤモンドチップを示す断面図である。

第3図は、キャピラリーの内部状態を拡大して示すものである。

第4図は、レーザ装置の他の配置例を示す第1図相当の構成図である。

第5図は、第2実施例によるイオン化装置を示す構成図である。

第6a図および第6b図は、キャピラリーの他の構成例を示す断面図である。

第7図は、第3実施例によるイオン化装置を示す構成図である。

第8図は、基板の一部を拡大して示す断面図である。

#### 発明を実施するための最良の形態

##### 第1実施例

第1図は質量分析装置のイオン導入口付近に取付けられた第1実施例のイオン化装置の全体的構成を示すものである。

質量分析装置10のイオン導入口の部分には、微細な孔11aがあけられたオリフィス11が取付けられている。微細な孔11aがイオン導入口である。質量分析装置10内は真空に保たれる。

質量分析装置10の器壁に、オリフィス11を囲んでこれを覆うようにイオン化装置20のハウジング21が気密に取付けられている。ハウジング21とオリフィス11によって囲まれた空間がイオン化空間22である。イオン化空間22内は排気装置（ポンプ）（図示略）により、真空（たとえば10

$^{-3}$  Torr程度) に保たれる。

ハウジング21の壁を貫通して液体試料供給用のキャピラリー(細管)(シリカまたはアルミナ製)23が設けられる。キャピラリー23の先端部はイオン化空間22(ハウジング21)内にあり, 基端部は外方突出し, 連結体30につながっている。詳細は後述するが, キャピラリー23の先端にはダイヤモンドチップ24が取付けられている。ハウジング21の外部に赤外光レーザ装置25が配置され, このレーザ装置25から波長 $10.6\mu\text{m}$ の赤外レーザ光が出射し, ハウジング21の透明壁部分, または透明体により形成された窓を通して, ハウジング21内に入射する。レーザ装置25は, その出射レーザ光がキャピラリー23の先端のダイヤモンドチップ24にキャピラリー23の軸方向に投射されるように配置されている。

第4図に示すように, レーザ装置25をキャピラリー23の側方に配置し, その出射レーザ光を, ダイヤモンドチップ24に, キャピラリー23の軸方向に対して垂直な方向から投射するようにしてもよい。ダイヤモンドチップ24は赤外レーザ光を透過させるので, 赤外レーザ光はダイヤモンドチップ24内の液体試料に照射される。レーザ光をキャピラリー23の軸方向に対して斜め方向から投射してもよい。

第2図は, キャピラリー23と, その先端に取付けられたダイヤモンドチップ24と, 連結体30の構成を示すものである。

キャピラリー23は, プラスチック, シリカ(ガラス)等の電気的絶縁体により形成された細管で, 内部にその長さ方向に細孔23aがあけられている。

キャピラリー23の先端に取付けられたダイヤモンドチップ24は, 円錐形の形状で, その中心に細孔24aが形成されている。ダイヤモンドチップ24の細孔24aとキャピラリー23の細孔23aとが一直線状に連通するように, ダイヤモンドチップ24がキャピラリー23の先端の端面に接着, 固

定されている。ダイヤモンドチップ24が質量分析装置10のオリフィス11の孔11aの近傍に位置するようにキャピラリー23が配置される。

連結体30にはT字形の通路35, 36が形成されている。通路35は連結体30の中心を通り、両端が開放されている。この通路35に垂直に通路36が形成され、相互に連通している。

連結体30には、栓31を介して、その通路35の一端においてキャピラリー23の基端部が結合し、その細孔23aが通路35に連通している。通路35の他端にも水密に保つための栓33が設けられている。この栓33の外部から栓33を通して導電線（たとえば白金線。腐食に強い。）26が通路35内に挿入され、キャピラリー23内の細孔23a内を通ってその先端付近まで達している（ダイヤモンドチップ24から5～10mm手前まで）。

通路36の外端には栓32を介して試料導入管34が連結されている。液体試料が、導入管34から通路36, 35を経てキャピラリー23に供給される。

導電線26にはたとえば正の（または負の）高電圧が印加される。これにより、第3図に示すように、キャピラリー23内の液体試料がイオン化され、そのうちの負イオンが導電線26に流れ、過剰の正イオンが生成される。イオン化された試料はダイヤモンドチップ24内の細孔24a内にも満たされる。キャピラリー23の外周面には外側電極27が形成され、接地されている。

この状態で、レーザ装置25からダイヤモンドチップ24の細孔24a内の液体試料にパルス状の赤外レーザ光を照射する。レーザ光によって試料は瞬間的に加熱され、気化する。液体試料中の少なくとも水分は赤外光を吸収するので、レーザ光による加熱が効果的に行なわれる。また、ダイヤモンドは赤外光を吸収しないので、いわば試料は細孔24a内に閉じ込められた状態で気化が達成される。

このようにして気化された正の（または負の）イオン分子もしくはイ

オン原子はオリフィス11に印加された負電圧に引かれてその孔11aから質量分析装置10内に導入される。

質量分析装置がクロマトグラフィーなどと接合されている場合には、液体試料をダイヤモンドチップ24に連続的に供給し、連続発振の赤外レーザ光を照射すればよい。

ダイヤモンドに代えて、赤外光を吸収しにくいものとしてシリコン、ゲルマニウム等を用いることができる。キャピラリーそのものをシリコンやゲルマニウムにより形成してもよい。

キャピラリーを金属等の導電体により形成した場合には、導電線26は不要であり、導電性キャピラリーそのものに正または負の高電圧を印加すればよい。

## 第2 実施例

第5図は上述したレーザスプレー法によるイオン化方法に大気圧イオン化法を組み合わせたものである。第5図においてハウジング21の図示が省略されているが、ハウジングそのものを省略してもよいし（大気圧下にキャピラリー23、ダイヤモンドチップ24、コロナ放電電極28を配置する）、ハウジング21を設けてその内部を大気圧としてもよいし、ハウジング21内にコロナ放電ガス（大気を含む）を導入してもよい。

上記のように、ダイヤモンドチップ24が質量分析装置10のオリフィス11の孔11aの外側近傍に位置するようにキャピラリー23が配置される。キャピラリー23内には導電線を挿入しても挿入しなくてもよい。この実施例ではキャピラリー23の先端部の近傍にコロナ放電電極28が設けられる。

上述したように、ダイヤモンドチップ24に焦点を絞った赤外レーザ光を照射し、ダイヤモンドチップ24の細孔24a内の水溶液試料を完全気化させる。この際、液体中に存在していたイオンがそのままイオンとして

気化する場合もあるが、中性のままの分子、または正イオンと負イオンが再結合して中性化した中性分子も発生する。

赤外線レーザ光照射によってダイヤモンドチップ24の先端から完全気化した試料ガスが噴出する。その噴出するダイヤモンドチップ24先端のごく近傍にコロナ放電電極28を取り付ける。このコロナ放電電極28に正または負の高電圧を印加してコロナ放電を生起させる。正電圧印加でコロナ放電を起こさせると、プロトン化された中性試料、 $[M + H]^+$  が主に生成する。負の高電圧を印加した場合には、中性試料分子が脱プロトン化した負イオン  $[M - H]^-$  が主に生成する。コロナ放電によって試料分子がダイヤモンドチップ24の先端付近で濃縮された状態でイオン化されるので、中性分子のイオン化効率を高めることができ、したがつて、従来の大気圧イオン化法（試料分子がイオン化室全体に拡散した状態で試料ガスをイオン化させる方法）に比べて、桁違いの中性分子の検出効率が得られる。

従来は、液体試料中の中性分子の分析には、まず液体試料を超音波やネブライザーで液滴にして、その後、器壁を加熱させて液体試料を気化させて、大気圧イオン化させていた。この実施例の方法によると、イオン化室の器壁温度を上昇させて液体試料の気化を促進させる必要がないので、熱分解し易い生体試料でも分解させることなく、ソフトにイオン化させることができる。ダイヤモンドチップ24への赤外レーザ照射では、ダイヤモンドチップ24は加熱されず、またレーザ光エネルギーは、溶媒の水素結合の切断に費やされ、分子の振動励起にはつながらないので、試料分子の分解をほぼ完全に無視できるという利点をもつ。

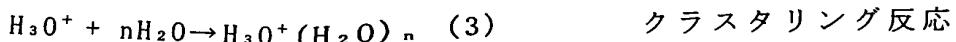
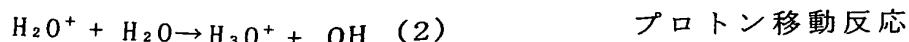
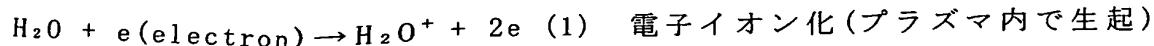
大気圧下で生成したイオンは、オリフィス11の孔11aを通して真空中にサンプリングされ、質量分析される。質量分析装置10としては、オルソゴナル飛行時間型質量分析計、四重極質量分析計、磁場型質量分析計

などが使用可能である。

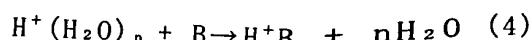
第6a図はコロナ放電電極の他の例を示している。キャピラリー23内に挿通した導電線（金属線、白金線）26の先端をダイヤモンドチップ24の先端からわずかに（数mm程度）外方に突出させ、この導電線26の先端部をコロナ放電電極とする。導電線26の先端は、放電プラズマを発生し易くするために鋭く研磨してもよい。

上述したように、水溶液試料などをキャピラリー23に流し、ダイヤモンドチップ24から流出する液体試料にレーザ光を照射（赤外線レーザ： $10.6 \mu m$ ）して完全に気化させる。この状態で、キャピラリー23の中心に通した導電線26に高電圧を印加（数百ないし数kV）して、導電線26の先端にコロナ放電を生起させる。このコロナ放電によって、プラズマ部にイオンが発生する。たとえば、水溶液試料では溶媒が水なので、水蒸気の放電で、プロトンの水和クラスターが多量に発生する。

水蒸気プラズマで  $H^+(H_2O)_n$  クラスターイオン発生



$H_3O^+$ や水和クラスターイオン  $H_3O^+(H_2O)_n$  は、試料中の分析目的の成分Bとプロトン移動反応を起こして、 $H^+B$ を生成する。



この反応は、大気圧中で行われるので、 $H^+(H_2O)_n$ イオンと周囲のガス分子同士が極めて多数回の衝突を起こす。このため、分析目的成分Bの濃度が極めて低くても、反応(4)が効率よく起こるので、十分な感度で成分Bを検出することができる。

上述の通り、この実施例の方法は、レーザ照射による液体試料の完全気化（レーザスプレー法）と大気圧イオン化法を組み合わせたものである。生体試料の場合、溶媒が水とすることが望ましい。水溶液試料の場合、レーザ光照射によって水蒸気が発生する。水蒸気は、放電プラズマが発生しにくいという性質を有する。この問題点は、雰囲気ガスとして希ガス（アルゴンガスなど）を混ぜることによって大幅に緩和させることができる。

第6b図に示すように、液体試料が流出するキャピラリー23の外側に、キャピラリー23の外周面との間に隙間（間隔）をあけて外筒29を設け、キャピラリー23の外周面と外筒29との間の隙間を通してアルゴンガスなどのアシストガスをキャピラリー23（ダイヤモンドチップ24）の先端付近に供給する。瞬時に気化された液体試料の溶媒蒸気とアルゴンガスを混合させることで、コロナ放電を容易に発生させ、また安定に放電プラズマを持続させることができる。

この方法では、水分子よりも大きなプロトン親和力の分子であれば、それらをすべて高感度で検出することができる。生体関連分子は、通常水分子に比べて大きなプロトン親和力を有することが多いので、この方法は生体試料の分析に極めて有用である。また、この方法を液体クロマトグラフィー（LC）と組み合わせることによって（LCから出力される液体試料をキャピラリー23に供給する），混合成分をあらかじめLCで分離させて、各成分を個別に検出することが可能となる。一般的のLCの検出器（紫外吸収検出器など）では、分子の同定が困難である。これに比べて、上記のイオン化法を用いる質量分析法では、分子Bが $BH^+$ として質量分析されるので、分析目的成分の分子量が求められる。また、大気圧イオン源からイオンを真空側に取り出して、衝突誘起解離を起こさせることで、分子の構造情報をあわせて得ることもできる。

上記のイオン化法は、赤外レーザ光照射で、溶液試料を瞬時に気化させ、この気体試料をダイヤモンドチップの中心に収束（つまり発散させることなく濃縮させた状態で）させた状態で、その中心にコロナ放電を起こさせるものである。これによって、まず反応イオン、 $H_3O^+$  ( $H_2O$ )。（溶媒が水の場合）を生成する。この反応イオン $H_3O^+$  ( $H_2O$ ) は、大気圧下において周囲の気体分子と多数回の衝突を繰り返す。一度でも分析目的成分分子と衝突すれば、プロトン移動反応(4)が必ず起こるので、多数回の衝突を経た後、最終的に反応イオン $H_3O^+$  ( $H_2O$ ) のプロトン ( $H^+$ ) の大部分は、分析目的成分分子 B に移り、分子 B をイオン化（プロトン化）して、分子 B に電荷が移る（プロトン化した B 分子、すなわち  $H^+B$  の生成）。この過程は、イオン-分子反応（プロトン移動反応）を利用して、分子 B をイオンの形 ( $H^+B$ ) として濃縮する過程とみなすことができる。このイオン化法では、ppb レベルの分析を容易に行うことができる（濃縮効率が 10 の 9 乗に相当： $10^9$  分の 1 の成分をイオン化できる。反応イオンは周囲の分子と少なくとも  $10^9$  回以上の衝突を行う）。

試料にプロトン親和力の異なる分子が複数種類混合している場合、イオン-分子反応（プロトン移動反応）が逐次的に起こり、各成分の定量分析が困難になるというケースがあり得る。しかしながら、LC と組み合わせることにより、混合試料であっても、液体クロマトグラフィーによってあらかじめ分離されてから、ダイヤモンドチップに流出するので、ダイヤモンドチップ先端で、複数種の試料が混在する可能性は考えなくともよい。

第 5 図においてはレーザ光はキャピラリー 23 の軸方向に垂直にダイヤモンドチップ 24 に投射されており、第 6 a 図および第 6 b 図においてはレーザ光はキャピラリー 23 の軸方向にダイヤモンドチップ 24 内に投射さ

れている。レーザ光の投射方向は上記のいずれであってもよい。第6a図にLAで示すように、レーザ光をキャピラリー23の軸方向に垂直に投射してもよい。

### 第3実施例

第7図は質量分析装置のイオン導入口付近に取付けられた第3実施例のイオン化装置の全体的構成を示すものである。

質量分析装置40のイオン導入口の部分には、やや大きな開口41aがあげられたスキマー41が取付けられている。開口41aがイオン導入口である。質量分析装置40内は真空に保たれる。

質量分析装置40の器壁に、スキマー41を囲んでこれを覆うようにイオン化装置50のハウジング51が気密に取付けられている。ハウジング51とスキマー41によって囲まれた空間がイオン化空間52である。イオン化空間52内は排気装置（ポンプ）（図示略）により、高真空（たとえば $10^{-6}$ ～ $10^{-7}$ Torr程度）に保たれる。

ハウジング51内のイオン化空間52には試料台53が設けられ、ハウジング51の外に配置された極低温冷凍機54の腕により支持されている。この冷凍機54はたとえば10K程度に冷却する能力を持つ。また、ハウジング51内にはイオンをスキマー41の開口41aに導くグリッド55が設けられている。

基板60はたとえば第8図に示すように、シリコン基板を微細加工することにより、その表面に多数の試料保持用凹所62が形成されている。この凹所62は基板60と一体成形された筒状の突起（壁）61により囲まれている。この凹所62内にイオン化すべき試料Aが収められ、かつ保持されている。

試料はたとえば生体試料（DNA, タンパク質分子など）であり、水、SF<sub>6</sub>のような低分子量の無機マトリクスに混ぜられている。

基板としては、第8図に示す形状のものに限らず、たとえばポーラスシリコンでもよい。ポーラスシリコンは無数のナノサイズの穴を有し、それらの穴の周囲に鋭利な突起が形成されている。ポーラスシリコン表面に水溶液試料などを塗布し、これを凍結し、その後レーザ照射を行う。また、塗布した試料の上層に水およびSF<sub>6</sub>薄膜を真空蒸着してレーザ照射を行ってもよい（この状態も、試料がマトリクスに混ぜられているという表現に含まれるものとする）。

このようにして、マトリクスに混ぜられた試料を保持した基板60がイオン化空間52内の試料台53に取付けられる。基板60には正または負の高電圧が印加される。そして、ハウジング51の外部に配置した赤外レーザ光源装置56から赤外レーザ光をハウジング51内の基板60上の試料に斜めに照射する。水を含む低分子無機マトリクスは高い効率で赤外光を吸収して、表面近傍に衝撃波を発生させる。発生した衝撃波は基板60に向う。この過程で、マトリクスおよび試料が急速加熱され、試料が脱離し、突起61またはポーラスシリコンの突起に印加された高電場のために効率よく気相の正または負イオンを発生する。これらのイオンは基盤60の面に垂直な方向に向かいスキマー41の開口41aから飛行時間型質量分析装置40内に導かれる。

マトリクスは低分子量の無機材料からなるものであるから、これらが飛散し、イオン化して質量分析装置40内に導入されても大きな雑音成分にはならない。

水を含むマトリクスは赤外光を吸収するので、試料は急速に加熱される。生体試料もまた水分を含み赤外光を吸収するので効率よく加熱される。

上記実施例では、試料を凍結しているので、その乾燥を防ぐことができる。

## 請求の範囲

1. 液体試料を導入したキャピラリーの先端にレーザ光を照射して試料をイオン化するレーザスプレー法において、  
少なくともキャピラリーの先端部を、使用するレーザ光を吸収しにくい物質で形成することを特徴とするイオン化方法。
2. レーザ光が赤外光であり、レーザ光を吸収しにくい物質がダイヤモンド、シリコン、ゲルマニウムのうちのいずれかである、請求の範囲第1項に記載のイオン化方法。
3. 絶縁性キャピラリーの先端に、キャピラリーの細孔に連通する細孔があけられたダイヤモンドチップを取付ける、請求の範囲第1項または第2項に記載のイオン化方法。
4. 少なくともキャピラリーの先端部を、質量分析装置のイオン導入口付近において、真空中に配置する、請求の範囲第1項から第3項のいずれか一項に記載のイオン化方法。
5. 少なくともキャピラリーの先端部を、質量分析装置のイオン導入口付近において、大気圧中に配置する、請求の範囲第1項から第3項のいずれか一項に記載のイオン化方法。
6. キャピラリーを導電体で形成し、キャピラリーに高電圧を印加することにより、キャピラリー先端近傍に電場を形成する、請求の範囲第1項に記載のイオン化方法。
7. キャピラリーを絶縁体で形成し、キャピラリー内に導電線を配置し、この導電線に高電圧を印加する、請求の範囲第1項に記載のイオン化方法。
8. 少なくともキャピラリーの先端部をコロナ放電ガス中に配置し、キャピラリーの先端部の近傍にコロナ放電電極を設け、このコロナ放電電

極に正または負の高電圧を印加してコロナ放電を生起させる，請求の範囲第1項から第3項のいずれか一項に記載のイオン化方法。

9. キャピラリーを絶縁体で形成し，キャピラリー内に導電線を配置し，この導電線の先端をキャピラリーの先端部から外方にわずかに突出させてコロナ放電電極とする，請求の範囲第8項に記載のイオン化方法。

10. キャピラリーの先端部を大気圧中に配置する，請求の範囲第8項または第9項に記載のイオン化方法。

11. キャピラリーの先端部付近にアシストガスを供給する，請求の範囲第8項から第10項のいずれか一項に記載のイオン化方法。

12. キャピラリーの外側にキャピラリーの外周面との間に隙を開けて外筒を設け，キャピラリーの外周面と外筒との間を通してアシストガスをキャピラリーの先端部付近に導入する，請求の範囲第11項に記載のイオン化方法。

13. パルス状レーザ光を照射する，請求の範囲第1項から第12項のいずれか一項に記載のイオン化方法。

14. 液体試料をキャピラリー内に連続的に流し，連続発振のレーザ光を照射する，請求の範囲第1項から第12項のいずれか一項に記載のイオン化方法。

15. キャピラリーの先端にレーザ光をキャピラリーのほぼ軸方向に向って照射する，請求の範囲第1項から第14項のいずれか一項に記載のイオン化方法。

16. キャピラリーの先端にレーザ光をキャピラリーの軸方向にほぼ垂直な方向から照射する，請求の範囲第1項から第14項のいずれか一項に記載のイオン化方法。

17. 液体試料を導入するキャピラリーの先端にレーザ光を照射して試料をイオン化するレーザスプレー装置において，

少なくともキャピラリーの先端部が、使用するレーザ光を吸収しにくい物質で形成されていることを特徴とするイオン化装置。

18. キャピラリーが絶縁性材料で形成され、キャピラリーの細孔に連通する細孔があけられたダイヤモンドチップがキャピラリーの先端に取付けられ、キャピラリーの細孔内に、高電圧が印加される導電線が配置されている、

請求の範囲第17項に記載のイオン化装置。

19. キャピラリーの先端部付近にコロナ放電電極が設けられている、請求の範囲第17項または第18項に記載のイオン化装置。

20. 導電線の先端がキャピラリー内にあり、キャピラリー先端部の近くまでのびている、請求の範囲第18項に記載のイオン化装置。

21. 導電線の先端部がキャピラリー先端のダイヤモンドチップから外方にわずかに突出している、請求の範囲第18項に記載のイオン化装置。

22. 質量分析装置のイオン導入口の外側に、ハウジングにより、イオン導入口を通して質量分析装置と連通するイオン化空間を形成し、イオン化空間内に、液体試料を導入するキャピラリーの少なくとも先端部を配置し、

キャピラリーの先端にレーザ光を照射するレーザ装置をイオン化空間の外部に配置し、

少なくともキャピラリーの先端部を、使用するレーザ光を吸収しにくい物質で形成する、

イオン化装置。

23. マトリクスと混ぜて保持された試料に、レーザ光を照射して試料をイオン化するM A L D I 法において、

水を含む低分子量の無機マトリクスを用い、

周囲の少なくとも一部に突起が形成された基板の窪み内に、無機マト

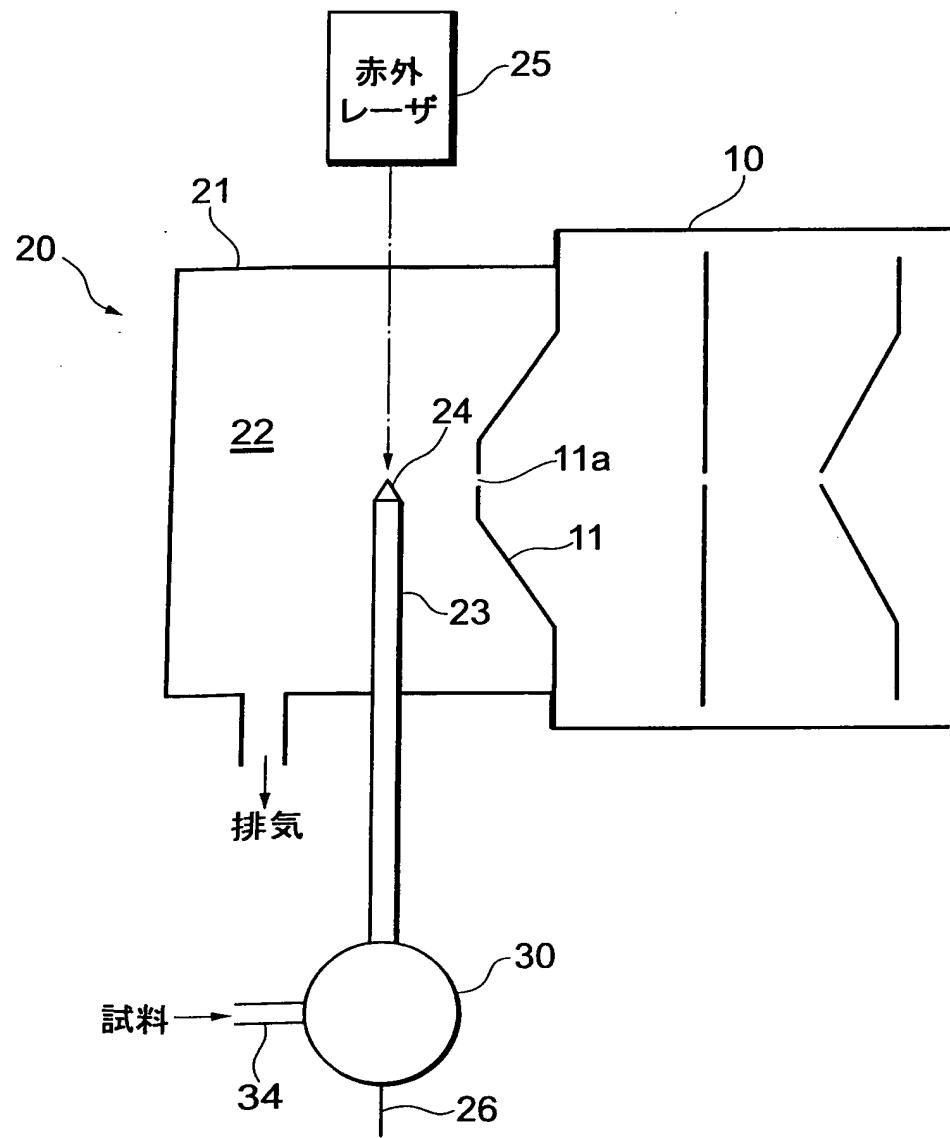
リクスと混ぜた試料を保持し、  
赤外レーザ光を試料に照射する、  
イオン化方法。

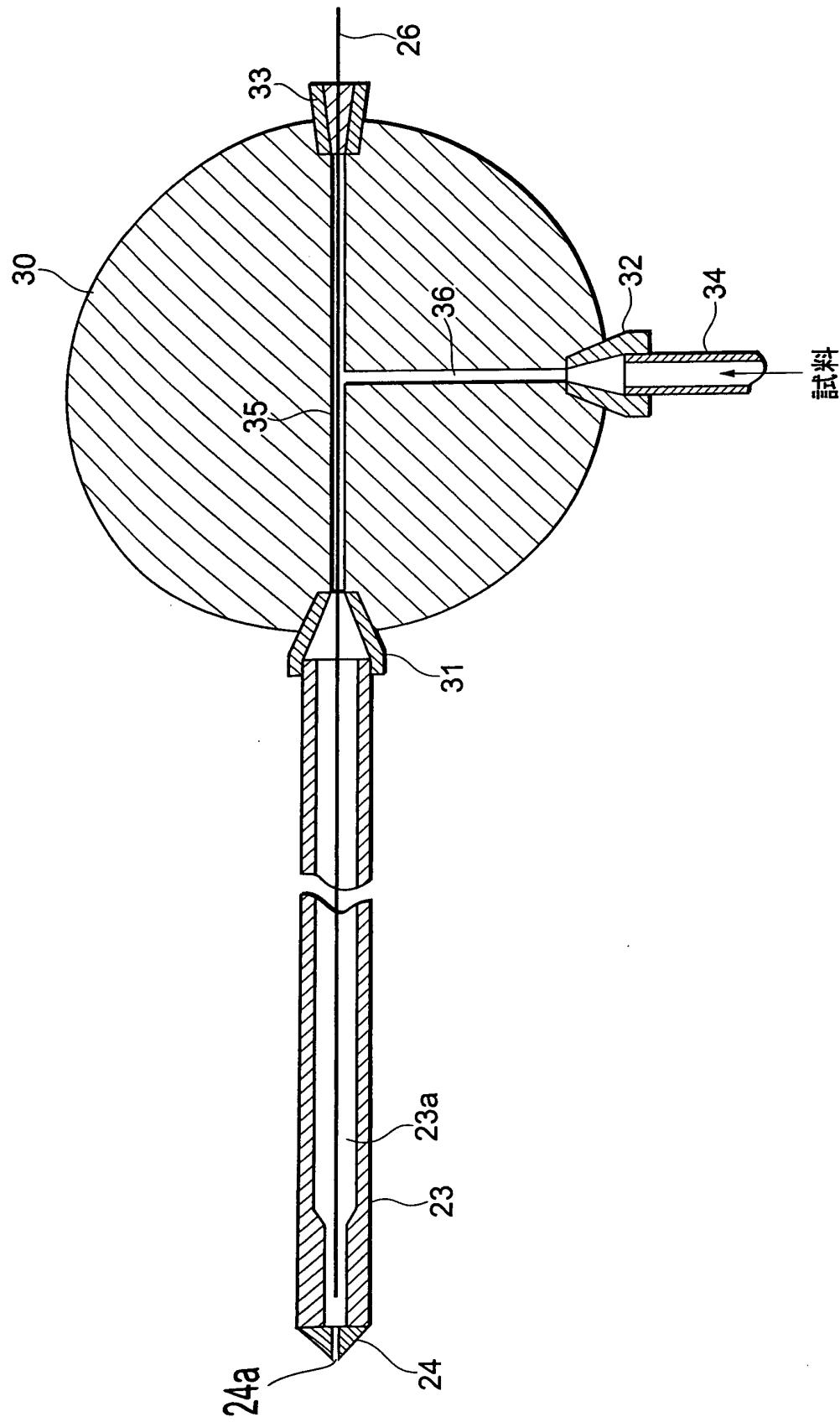
24. 基板の窪み内に保持された試料の周囲に電場を形成する、請求の範囲第23項に記載のイオン化方法。
25. 導電性基板に高電圧を印加して電場を形成する、請求の範囲第24項に記載のイオン化方法。
26. 基板がポーラスシリコンである、請求の範囲第23項から第25項のいずれか一項に記載のイオン化方法。
27. 基板を冷却する、請求の範囲第23項から第25項のいずれか一項に記載のイオン化方法。
28. 質量分析装置のイオン導入口の外側に、ハウジングにより、イオン導入口を通して質量分析装置と連通する真空に保たれるイオン化空間を形成し、  
周囲の少なくとも一部に突起が形成された窪みを持つ基板を上記イオン化空間内に配置し、  
イオン化空間の外部に、上記基板の窪みに保持された無機マトリクスと混ぜられた試料に赤外レーザ光を照射するレーザ装置を配置した、  
イオン化装置。
29. 上記基板を冷却する冷却装置を備えた、請求の範囲第28項に記載のイオン化装置。

## 要 約 書

質量分析に適用したときに高い検出感度をもつレーザスプレー法をさらに高感度化する。液体試料を導入したキャピラリーの先端にレーザ光を照射して試料をイオン化するレーザスプレー法において、レーザ光として赤外光レーザを用い、少なくともキャピラリーの先端部を、赤外レーザ光を吸収しにくい物質で形成し、キャピラリーを導電体で形成して高電圧を印加するか、キャピラリーを絶縁体で形成してその細孔内に導電線を配置しこの導電線に高電圧を印加する。

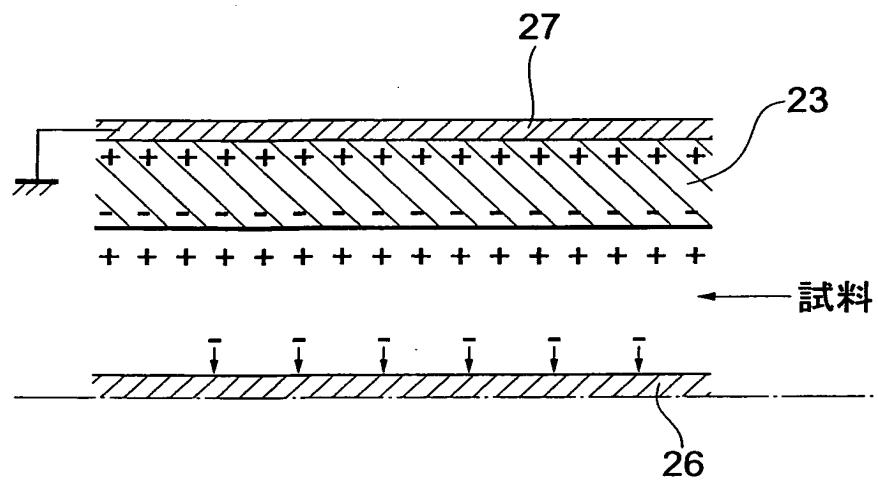
## 第1図



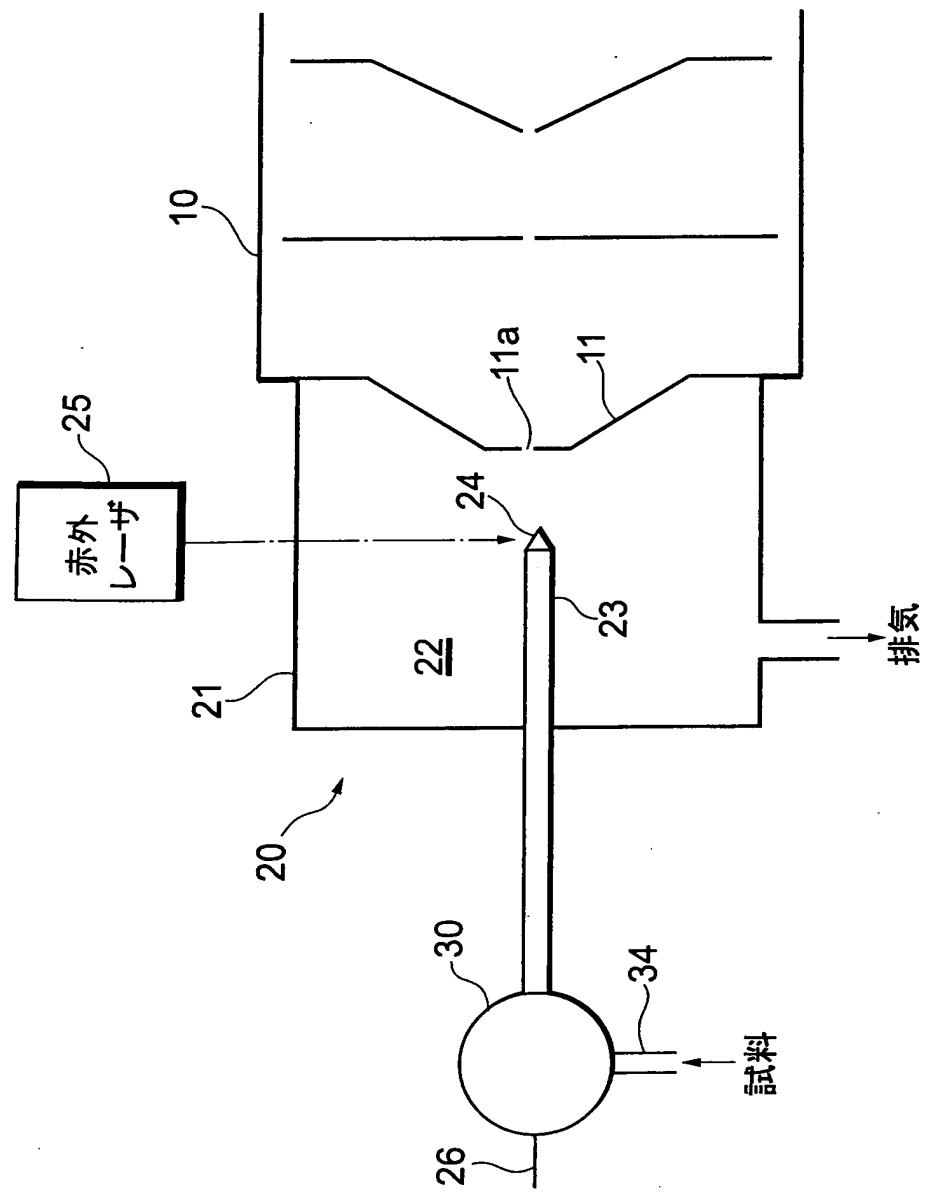


第2図

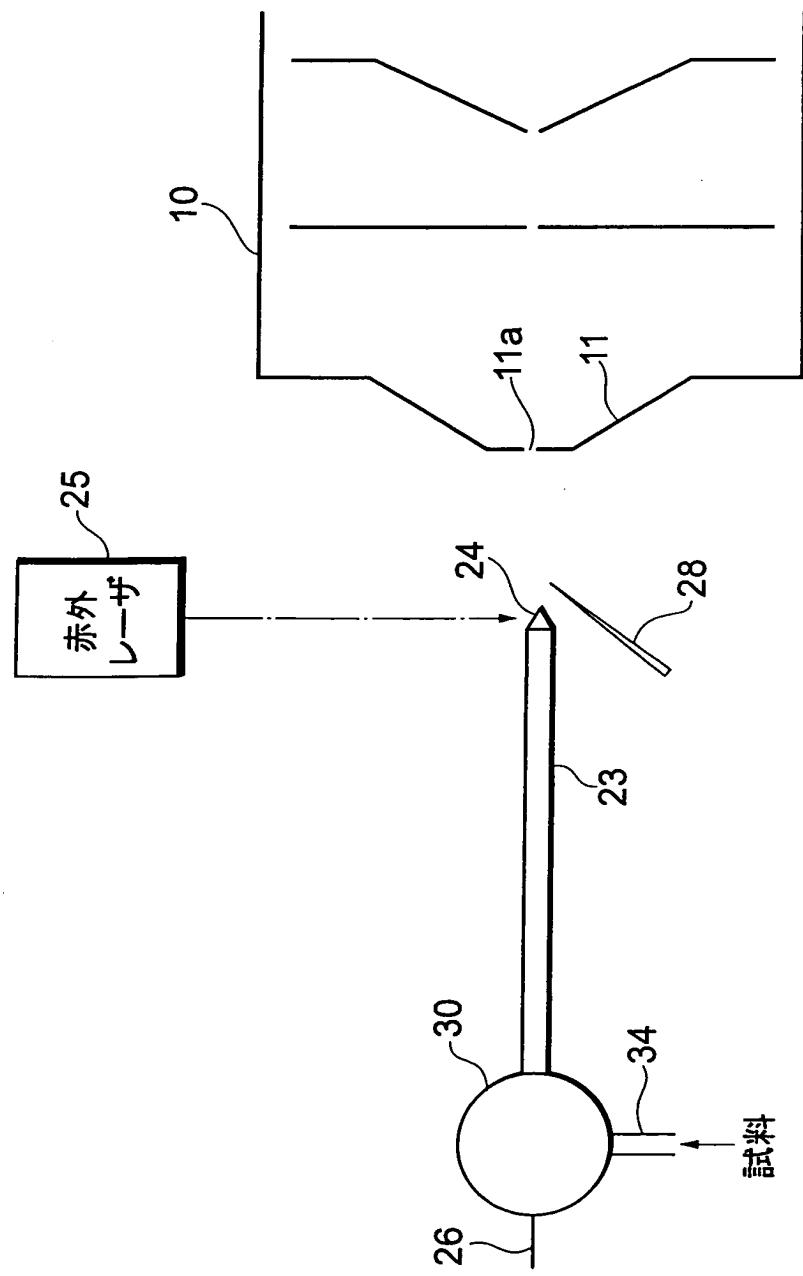
第3図



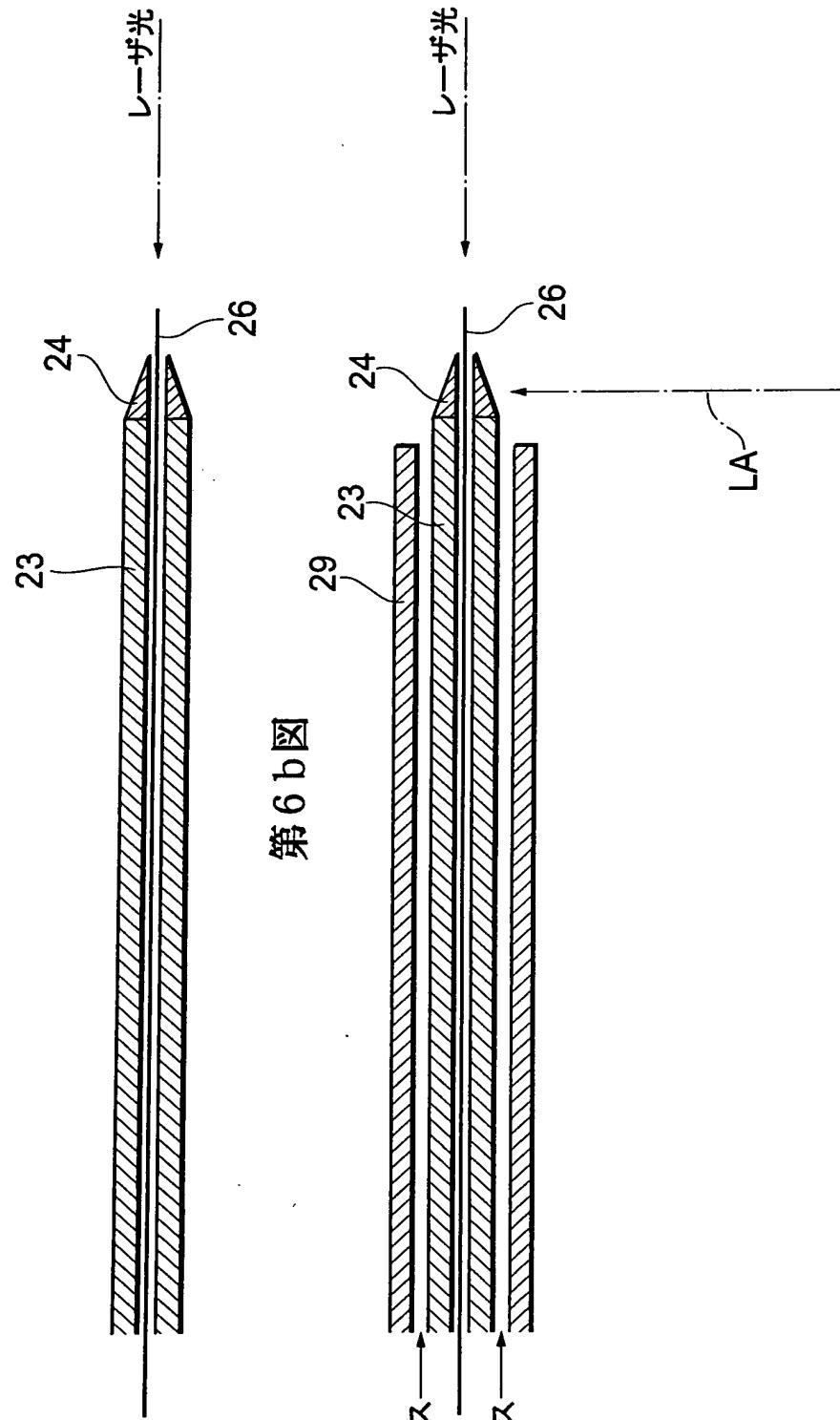
第4図



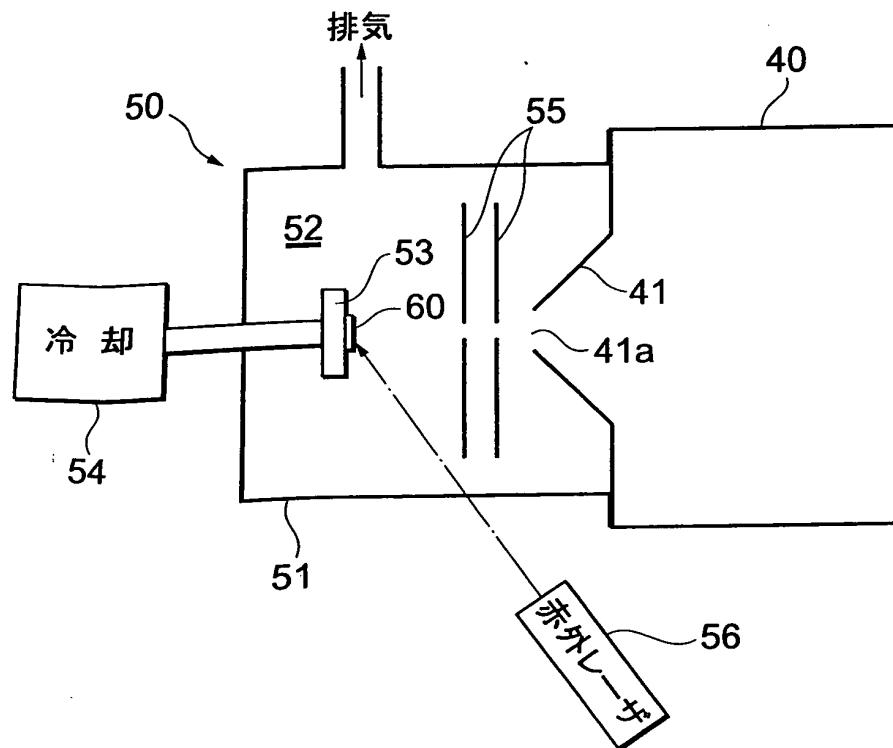
第5図



第6a図



第7図



第8図

